

## ผลของสารสกัดจากรำข้าวเหนียวแดงต่อการต้านการแข็งตัวของเลือดในหลอดทดลอง

เกวณีน วงศ์โอง<sup>1</sup>, ณรงค์ศักดิ์ มั่นคง<sup>2</sup>, อัฐพันธ์ หมอช้าง<sup>3</sup>  
ภัสราวดี เผ่าจินดา<sup>1</sup>, นันทวดี เนียมบุญ<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> สาขาวิชาเทคนิคการแพทย์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา กรุงเทพมหานคร

<sup>2</sup> ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา พะเยา

<sup>3</sup> หน่วยวิจัยมะเร็งและภูมิคุ้มกันวิทยา มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง เชียงราย

\*Corresponding author email: nunthawadee@bsru.ac.th

ได้รับบทความ: 9 กรกฎาคม 2568

ได้รับบทความแก้ไข: 21 กรกฎาคม 2568

ยอมรับตีพิมพ์: 27 กรกฎาคม 2568

### บทคัดย่อ

ความผิดปกติของการแข็งตัวของเลือดเป็นลักษณะสำคัญที่พบในโรคหลายชนิด การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินฤทธิ์ของสารสกัดจากรำข้าวเหนียวแดง (*Oryza sativa* L.) ต่อการแข็งตัวของเลือดในหลอดทดลอง โดยใช้พลาสมาจากอาสาสมัครสุขภาพดี สารสกัดถูกเตรียมที่ความเข้มข้น 5, 10 และ 20 mg/mL ซึ่งให้ความเข้มข้นสุดท้ายในหลอดทดลองเท่ากับ 1, 2 และ 4 mg/mL ตามลำดับ จากนั้นทำการวัดค่าการแข็งตัวของเลือดด้วยวิธี Prothrombin time (PT) และ Activated partial thromboplastin time (aPTT) ผลการศึกษาพบว่า ที่ความเข้มข้น 1 mg/mL ได้ค่า PT เท่ากับ  $26.53 \pm 0.27$  วินาที และ aPTT เท่ากับ  $121.23 \pm 1.07$  วินาที, ความเข้มข้น 2 mg/mL ได้ค่า PT เท่ากับ  $39.77 \pm 0.36$  วินาที และ aPTT เท่ากับ  $164.20 \pm 0.47$  วินาที และที่ความเข้มข้น 4 mg/mL ได้ค่า PT เท่ากับ  $67.30 \pm 0.64$  วินาที และ aPTT เท่ากับ  $174.90 \pm 0.49$  วินาที ตามลำดับ สารสกัดจากรำข้าวเหนียวแดงที่ความเข้มข้น 10 และ 20 mg/mL (ความเข้มข้นสุดท้าย 2 และ 4 mg/mL ในหลอดทดลอง) สามารถเพิ่มระยะเวลา PT ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม PBS (negative control) โดยมี

ค่า  $P < 0.05$  การเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารสกัดความเข้มข้น 5 mg/mL กับกลุ่มที่ได้รับ 20 mg/mL (ความเข้มข้นสุดท้าย 1 และ 4 mg/mL ในหลอดทดลอง) พบว่าผลทดสอบระยะเวลา aPTT มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดจากรำข้าวเหนียวแดงมีผลยืดยาวระยะเวลาการแข็งตัวของเลือด โดยความเข้มข้น 4 mg/mL มีฤทธิ์ยับยั้งการแข็งตัวของเลือดมากที่สุด ผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าสารสกัดจาก *Oryza sativa* L. อาจมีศักยภาพในการใช้เป็นสารต้านการแข็งตัวของเลือด ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการรักษาหรือป้องกันภาวะที่เกี่ยวข้องกับความผิดปกติของการแข็งตัวของเลือดได้ในอนาคต

**คำสำคัญ:** การแข็งตัวของเลือด/ สารกันเลือดแข็ง/ สารสกัดจากรำข้าวเหนียวแดง/  
ในหลอดทดลอง

## ***In vitro* Anticoagulant Effect of Red Rice Bran Extract on Human Blood**

Kevalin Vounghoung<sup>1</sup>, Narongsuk Munkong<sup>2</sup>, Atthapan Morchang<sup>3</sup>  
Patsarawadee Paojinda<sup>1</sup>, Nuntawadee Niamnuy<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Medical Technology Program, Faculty of Science and Technology,  
Bansomdejchaopraya Rajabhat University, Bangkok

<sup>2</sup>Department of Pathology, School of Medicine,  
University of Phayao, Phayao

<sup>3</sup>Cancer and Immunology Research Unit (CIRU),  
Mae Fah Luang University, Chiang Rai

\*Corresponding author email: nunthawadee@bsru.ac.th

Received: 9 July 2025

Revised: 21 July 2025

Accepted: 27 July 2025

### **Abstract**

Coagulation abnormalities are key features observed in various diseases. This study aimed to evaluate the anticoagulant effect of red glutinous rice bran extract (*Oryza sativa* L.) on blood coagulation *in vitro*, using plasma from healthy volunteers. The extract was prepared at concentrations of 5, 10, and 20 mg/mL, corresponding to final concentrations in the test tubes of 1, 2, and 4 mg/mL, respectively. Blood coagulation was assessed using Prothrombin time (PT) and Activated partial thromboplastin time (aPTT) assays. The results showed that at a concentration of 1 mg/mL, the PT and aPTT values were  $26.53 \pm 0.27$  and  $121.23 \pm 1.07$  seconds; at 2 mg/mL, PT was  $39.77 \pm 0.36$  seconds and aPTT was  $164.20 \pm 0.47$  seconds; and at 4 mg/mL, PT and aPTT were  $67.30 \pm 0.64$  and  $174.90 \pm 0.49$  seconds, respectively. Glutinous rice bran extract at concentrations of 10 and 20 mg/mL

(final concentrations of 2 and 4 mg/mL *in vitro*) significantly prolonged the prothrombin time (PT) compared to the PBS control group (negative control), with a P-value < 0.05. A comparison between the groups treated with 5 mg/mL and 20 mg/mL extract (final concentrations of 1 and 4 mg/mL *in vitro*) showed a statistically significant difference in activated partial thromboplastin time (aPTT) results ( $P < 0.05$ ). These findings indicate that increasing the concentration of red rice bran extract prolonged coagulation time, with 4 mg/mL showing the strongest anticoagulant activity. This study suggests that *Oryza sativa* L. extract may have potential as an anticoagulant agent and could be further explored for therapeutic or preventive applications in coagulation-related disorders.

**Keywords:** Blood Coagulation/ Anticoagulant/ Red Rice Bran Extract/

*In vitro*

## บทนำ

การไหลเวียนของเลือดภายในระบบหัวใจและหลอดเลือดมีบทบาทอย่างยิ่งในการขนส่งแก๊ส สารอาหาร เกลือแร่ ฮอร์โมน และผลผลิตของกระบวนการเมแทบอลิซึมระหว่างอวัยวะต่างๆ ซึ่งการทำหน้าที่ดังกล่าวจำเป็นต้องมีกลไกการควบคุมไม่ให้เกิดการรั่วหรือเสียเลือดมากเกินไปเมื่อมีการฉีกขาดของหลอดเลือด ในสิ่งมีชีวิตทั้งคนและสัตว์ จึงมีวิวัฒนาการของกลไกการห้ามเลือดหรือ Hemostasis ที่ทำงานผ่านทางเซลล์และวิถีชีวเคมีที่มีประสิทธิภาพสูงเพื่อป้องกันไม่ให้อวัยวะสูญเสียเลือดออกจากระบบไหลเวียนเมื่อมีการฉีกขาดของหลอดเลือด [1] การห้ามเลือดจะประกอบด้วยกลไกที่สำคัญ 2 ระบบ ได้แก่ 1. ระบบการแข็งตัวเป็นลิ่มของเลือด (Blood coagulation system) เป็นระบบที่เกี่ยวข้องกับการสร้างลิ่มเลือดเพื่อป้องกันการสูญเสียเลือดจากระบบไหลเวียนเมื่อเกิดมีการฉีกขาดของหลอดเลือด ในระบบนี้จะมี 2 กระบวนการที่ทำหน้าที่ตรงข้ามเพื่อรักษาสมดุลของการเกิดลิ่มเลือด ได้แก่ กระบวนการสร้างลิ่มเลือด (Coagulation process) และกระบวนการยับยั้งการสร้างลิ่มเลือด (Anticoagulation process) 2. ระบบการสลายลิ่มเลือด (Blood clot dissolution หรือ Fibrinolytic system) ซึ่งเกี่ยวข้องกับการสลายลิ่มเลือดที่อาจจะเกิดมากเกินไปหรือเกิดผิดตำแหน่ง เพื่อช่วยป้องกันไม่ให้เกิดลิ่มเลือดมากเกินไปจนเกิดการอุดตันของระบบไหลเวียนเลือด ในระบบนี้จะมี 2 กระบวนการที่ทำหน้าที่ตรงข้ามเพื่อรักษาสมดุลของการสลายลิ่มเลือดคล้ายระบบข้างต้น ได้แก่ กระบวนการสลายลิ่มเลือด (Fibrinolytic process) และกระบวนการยับยั้งการสลายลิ่มเลือด (Antifibrinolytic process) กลไกทั้งหมดนี้จะทำงานร่วมกันอย่างมีประสิทธิภาพผ่านทางปฏิกิริยาเกี่ยวโยงและสัมพันธ์กันเพื่อให้การห้ามเลือดของร่างกายอยู่ในภาวะที่ปกติ การเสียสมดุลของระบบดังกล่าวอาจทำให้เกิดความผิดปกติของการแข็งตัวของเลือดและพยาธิสภาพต่างๆ ทางคลินิก อาทิ เกิดภาวะเลือดออกง่าย (Bleeding หรือ Hemorrhage) หรือภาวะเลือดแข็งตัวในหลอดเลือดง่าย (Thrombosis/ Hypercoagulable state) [2]

เมื่อเกิดการฉีกขาดของหลอดเลือดและมีเลือดออก เกล็ดเลือดจะมีบทบาทสำคัญในกระบวนการห้ามเลือด โดยจะยึดเกาะบริเวณที่มีบาดแผลผ่านกลไกการยึดติดกับผนังหลอดเลือดโดยอาศัย von Willebrand factor (vWF) เป็นตัวกลางในการเชื่อม จากนั้นเกล็ดเลือดจะรวมกลุ่มกันโดยมี vWF และไฟบริโนเจน (fibrinogen) ทำหน้าที่เป็นตัวเชื่อมสำคัญในการสร้างกลุ่มเกล็ดเลือด (platelet aggregation) พร้อมกับหลั่งสารกระตุ้นเพื่อ

เสริมการรวมตัวและกระตุ้นกระบวนการสร้างไฟบริน (fibrin) ซึ่งช่วยเสริมให้ลิ่มเลือดที่เกิดขึ้นมีความแข็งแรงและปิดรอยฉีกขาดของหลอดเลือดได้อย่างมีประสิทธิภาพ หากมีความผิดปกติทั้งในด้านจำนวนหรือการทำงานของเกล็ดเลือด อาจทำให้ผู้ป่วยมีความเสี่ยงต่อการเกิดเลือดออกผิดปกติ ในทางกลับกัน หากเกล็ดเลือดมีจำนวนมากผิดปกติหรือมีการตอบสนองไวเกินไป อาจนำไปสู่การเกิดลิ่มเลือดในกระแสเลือด ซึ่งเสี่ยงต่อภาวะหลอดเลือดอุดตันในอวัยวะสำคัญและอาจเป็นอันตรายถึงชีวิต ผู้ป่วยกลุ่มนี้จึงอาจจำเป็นต้องได้รับยาต้านเกล็ดเลือด การตรวจประเมินการทำงานของเกล็ดเลือดจึงมีความสำคัญในการวินิจฉัยหรือประเมินภาวะเลือดออกง่ายผิดปกติ รวมถึงความเสี่ยงต่อการเกิดลิ่มเลือดอุดตันในระบบหลอดเลือด [3]

ภาวะลิ่มเลือดอุดตันที่หลอดเลือดดำ (Venous Thromboembolism: VTE) เป็นภาวะที่เกิดจากความผิดปกติของระบบการแข็งตัวของเลือด นำไปสู่การเกิดลิ่มเลือด (thrombus) ภายในหลอดเลือดหรือหัวใจ หากเกิดในหลอดเลือดแดงจะเรียกว่า arterial thrombosis และหากเกิดในหลอดเลือดดำจะเรียกว่า venous thrombosis เมื่อก่อนเลือดหลุดออกและไหลไปอุดตันที่อวัยวะสำคัญ เช่น ปอดหรือสมอง จะเรียกว่า thromboembolism ซึ่งเป็นภาวะที่มีความรุนแรงและอาจถึงแก่ชีวิต ภาวะ VTE พบได้ในประชากรทุกช่วงวัยและทุกเชื้อชาติ โดยมีปัจจัยเสี่ยงสำคัญ ได้แก่ ภาวะอยู่นิ่งนาน (immobility) การผ่าตัดใหญ่ การบาดเจ็บ และภาวะเลือดแข็งตัวง่ายผิดปกติ (hypercoagulable disorders) VTE แบ่งออกเป็น 2 ประเภทหลัก คือ 1. ภาวะลิ่มเลือดอุดตันที่หลอดเลือดดำส่วนลึก (Deep Vein Thrombosis: DVT) และ 2. ลิ่มเลือดอุดตันที่ปอด (Pulmonary Embolism: PE) ซึ่ง PE มักมีการดำเนินโรครวดเร็วและมีอัตราการเสียชีวิตสูง โดยประมาณร้อยละ 80 ของผู้ป่วยที่เสียชีวิตจาก VTE มีสาเหตุจากลิ่มเลือดอุดตันในปอด การรักษาหลักในปัจจุบันคือการใช้ยาต้านการแข็งตัวของเลือด (antithrombotic drugs) ที่ออกฤทธิ์ในการยับยั้งกระบวนการแข็งตัวของเลือด หรือป้องกันการเกิดลิ่มเลือดซ้ำ ซึ่งการใช้ยาเหล่านี้จำเป็นต้องอยู่ภายใต้การติดตามอย่างใกล้ชิดเนื่องจากอาจเกิดผลข้างเคียงที่สำคัญ เช่น ภาวะเลือดออก [4-5]

ยาด้านการแข็งตัวของเลือดเป็นสารเคมีที่ออกฤทธิ์ยับยั้งกระบวนการแข็งตัวของเลือดตามธรรมชาติในร่างกาย โดยมีบทบาทสำคัญในการรักษาและป้องกันการเกิดลิ่มเลือดที่ผิดปกติ ปัจจุบันมีการใช้ยาเหล่านี้อย่างแพร่หลายในการควบคุมภาวะการแข็งตัวของเลือด

ในผู้ป่วยโรคหัวใจและหลอดเลือด เบาหวาน และมะเร็ง แม้จะมีการพัฒนายาต้านการแข็งตัวของเลือดหลายชนิดในช่วงหลายทศวรรษที่ผ่านมา แต่ตัวยาส่วนใหญ่ยังคงมีผลข้างเคียงที่ไม่พึงประสงค์ เช่น ภาวะเลือดออก ซึ่งอาจมีตั้งแต่ระดับไม่รุนแรงไปจนถึงรุนแรง เช่น เลือดออกในหรือรอบสมอง อีกทั้งยาบางชนิด เช่น วาร์ฟาริน (warfarin) ยังมีข้อจำกัดในการใช้ร่วมกับอาหารบางประเภทเนื่องจากเกิดปฏิกิริยาระหว่างยาและอาหาร ด้วยเหตุนี้จึงมีการวิจัยอย่างต่อเนื่องเพื่อตามหาทางเลือกใหม่ในรูปแบบของยาต้านการแข็งตัวของเลือดจากธรรมชาติที่มีพิษต่ำและมีผลข้างเคียงน้อยลง [6-7]

ข้าว (*Oryza* spp.) เป็นพืชในวงศ์ Gramineae ซึ่งจัดอยู่ในสกุล *Oryza* มีลักษณะเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว มีระบบรากฝอย และสามารถเจริญเติบโตได้ดีทั้งในเขตร้อนและเขตอบอุ่น ข้าวในสกุลนี้มีจำนวนทั้งหมด 23 สายพันธุ์ โดยเป็นข้าวป่า 21 สายพันธุ์ และข้าวที่สามารถนำมาบริโภคได้ 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *Oryza glaberrima* ซึ่งมีถิ่นกำเนิดในทวีปแอฟริกา และ *Oryza sativa* L. ซึ่งเป็นข้าวที่มีแหล่งกำเนิดในทวีปเอเชีย และมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงกว่า อีกทั้งยังเป็นสายพันธุ์ที่ได้รับความนิยมและแพร่หลายในระดับสากล ข้าวพื้นเมืองของไทย โดยเฉพาะข้าวที่มีเมล็ดสี เช่น ข้าวเจ้ามะลิแดง ข้าวเหนียวแดง ข้าวเจ้ามะลิดำ ข้าวเหนียวก้าน้อย และข้าวเหนียวกำเปลือกขาว กำลังได้รับความสนใจอย่างมากจากวงการวิชาการและผู้บริโภค เนื่องจากมีคุณสมบัติทางโภชนาการและสุขภาพที่โดดเด่น เช่น มีค่าดัชนีน้ำตาลอยู่ในระดับปานกลางถึงต่ำ ซึ่งเหมาะสมสำหรับผู้ที่ต้องการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด อีกทั้งยังมีสารต้านอนุมูลอิสระในระดับสูง โดยเฉพาะกลุ่มโพลีฟีนอล วิตามินอี และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่เกี่ยวข้องกับการลดความเสี่ยงต่อโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง เช่น โรคเบาหวาน โรคมะเร็ง และโรคหลอดเลือด ข้าวเหนียวแดงเป็นตัวอย่างหนึ่งของข้าวพื้นเมืองที่มีคุณค่าอาหารสูง มีลักษณะเนื้อนุ่มกว่าข้าวกล้องทั่วไป และมีวิตามินอีในปริมาณสูงถึง 400  $\mu\text{g}$  ต่อข้าว 100 g ซึ่งเชื่อว่ามีประโยชน์ต่อการป้องกันโรคเหน็บชา โรคโลหิตจาง และโรคอัมพาต อีกทั้งยังมีคุณสมบัติในการส่งเสริมสุขภาพจากการบริโภคอย่างต่อเนื่อง ข้าวแดงโดยทั่วไปสามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่ ข้าวป่า ซึ่งมักขึ้นปะปนกับข้าวธรรมดาและมีลักษณะเมล็ดแข็ง หุงไม่สุก และข้าวแดงที่ปลูกเพื่อการบริโภค ซึ่งมีเมล็ดเรียวยาว หุงสุกได้ และอุดมด้วยสารอาหารหลายชนิด งานวิจัยที่ผ่านมาชี้ชัดว่าข้าวที่มีสีเข้มจะมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าข้าวขาว จึงมีศักยภาพในการส่งเสริมสุขภาพและป้องกันโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากตัวเมล็ดข้าว

แล้ว “รำข้าว” ซึ่งเป็นผลพลอยได้จากการสีข้าว ประกอบด้วยเยื่อหุ้มเมล็ดและจมูกข้าว คิดเป็นประมาณร้อยละ 10.5 ของน้ำหนักข้าวเปลือก โดยข้อมูลในปี พ.ศ. 2554 ระบุว่าประเทศไทยมีผลผลิตรำข้าวสูงถึง 3.06 ล้านตัน รำข้าวไม่เพียงแต่มีโปรตีนสูง แต่ยังอุดมไปด้วยวิตามินอี ไทอามีน ไนอะซิน และแร่ธาตุต่าง ๆ เช่น อะลูมิเนียม แคลเซียม และเหล็ก รวมทั้งสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ เช่น ferulic acid,  $\gamma$ -oryzanol, inositol และกรดไขมันจำเป็น (essential fatty acids) ซึ่งล้วนมีบทบาทในการต้านอนุมูลอิสระ ป้องกันโรคหลอดเลือดหัวใจ โรคกระเพาะ และเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ดังนั้น การนำรำข้าวเหนียวแดงมาใช้ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น ฤทธิ์ต้านการแข็งตัวของเลือด จึงเป็นแนวทางที่น่าสนใจ ซึ่งอาจนำไปสู่การพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ หรือทางเลือกใหม่ในการป้องกันโรคที่เกี่ยวข้องกับระบบเลือดและหลอดเลือดได้ในอนาคต [8-10]

รำข้าวเหนียวแดงเป็นแหล่งของสารประกอบชีวภาพที่มีขั้ว (polar compounds) ซึ่งรวมถึงสารฟีนอลิก (phenolic compounds) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) และโพลีแซ็กคาไรด์ (polysaccharides) สารเหล่านี้สามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายมีขั้วอย่างเอทานอล (ethanol) ทำให้เอทานอลเป็นตัวเลือกที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสารจากรำข้าวเพื่อนำไปศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพต่าง ๆ เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ที่อาจมีต่อระบบการแข็งตัวของเลือด งานวิจัยโดย Hansakul ปี 2015 รายงานว่าสารสกัดเอทานอลจากรำข้าวสีของไทยมีปริมาณสารฟีนอลิกที่สามารถตรวจวัดได้ และแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในระดับหนึ่ง ซึ่งเป็นกลไกหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับการยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดและการก่อตัวของลิ่มเลือด ดังนั้น จึงมีความเป็นไปได้ที่สารออกฤทธิ์จากรำข้าวเหนียวแดงอาจมีบทบาทต่อกระบวนการแข็งตัวของเลือด [11-12]

องค์ประกอบพฤกษเคมีที่พบในสารสกัดจากรำข้าวเหนียวแดง (*Oryza sativa* L.) ซึ่งมีรายงานว่าสารเหล่านี้มีบทบาทสำคัญในการออกฤทธิ์ต้านการแข็งตัวของเลือดผ่านหลายกลไกทางชีวภาพ ทั้งในระดับของการต้านอนุมูลอิสระ การยับยั้งการกระตุ้นและการรวมตัวของเกล็ดเลือด รวมถึงการยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสารกระตุ้นการแข็งตัวของเลือด เช่น thromboxane A<sub>2</sub> และ prostaglandins นอกจากนี้ สารในกลุ่มโพลีฟีนอล ฟลาโวนอยด์ และโพรแอนโธไซยานิน ยังมีฤทธิ์ในการปรับสมดุลของการส่งสัญญาณภายในเซลล์เกล็ดเลือด รวมถึงลดระดับ fibrinogen และยับยั้งการเกิดลิ่มเลือด ซึ่งล้วนเป็นกลไกที่อาจมีบทบาทต่อการยืดระยะเวลาในการแข็งตัวของเลือด จึงมีความสำคัญ

ต่อการศึกษาความเข้าใจศักยภาพของสารสกัดรำข้าวเหนียวแดงในการพัฒนาเป็นสารต้านการแข็งตัวของเลือดจากธรรมชาติในอนาคต ดังแสดงในตารางที่ 1

**ตารางที่ 1** ระบุองค์ประกอบพฤกษเคมีจากสารสกัดจากรำข้าวเหนียวแดง *Oryza sativa* L. ที่อาจมีฤทธิ์ต้านการแข็งตัวของเลือด

| เลขลำดับ | ชื่อสารประกอบ | การออกฤทธิ์ทางชีวภาพตามที่รายงาน                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|----------|---------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1        | Phenolic      | <p>1. ต้านออกซิเดชัน ต้านการตายของเซลล์ต้านสารก่อมะเร็ง ต้านการอักเสบ ต้านโรคหลอดเลือดแดงตีบตัน ป้องกันโรคหัวใจ ปรับการทำงานของเอนโดทีเลียมเซลล์สามารถป้องกัน การเกิดออกซิเดชันของกรดไขมันไลโปโปรตีนความหนาแน่นต่ำ (LDL) ป้องกันเนื้อเยื่อและดีเอ็นเอจากการถูกทำลาย ด้วยปฏิกิริยาออกซิเดชันของอนุมูลอิสระในร่างกายได้</p> <p>2. มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง ช่วยลดการเกิดออกซิเดชันของไขมันในเกล็ดเลือด</p> <p>3. ช่วยยับยั้งการกระตุ้นเกล็ดเลือด (platelet activation) และการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด (platelet aggregation)</p> <p>4. ยับยั้งการสร้าง Thromboxane A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) ซึ่งเป็นตัวกลางในการกระตุ้นการรวมตัวของเกล็ดเลือด</p> <p>[11]</p> |
| 2        | Flavonoid     | <p>1. ออกฤทธิ์ ยับยั้งเอนไซม์ cyclooxygenase (COX) ซึ่งเกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์ prostaglandins และ thromboxanes</p> <p>2. ส่งผลให้ลดการรวมตัวของเกล็ดเลือด และ ยืดระยะเวลาการแข็งตัวของเลือด</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |

|   |                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|---|-----------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|   |                 | 3. Flavonoids ยังสามารถยับยั้งการสื่อสารภายในเซลล์เกล็ดเลือดผ่านการยับยั้ง calcium signaling และ MAPK pathway [13]                                                                                                                                                                                   |
| 3 | Proanthocyanins | 1. เป็น polyphenolic compounds ที่มีประสิทธิภาพในการ ยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด<br>2. มีฤทธิ์ลดระดับ fibrinogen และลดการเกิด fibrin clot formation<br>3. กระตุ้นการหลั่ง nitric oxide (NO) และ prostacyclin (PGI <sub>2</sub> ) จากเยื่อบุหลอดเลือด ซึ่งมีผลต้านการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด [13] |

จากความสำคัญของภาวะความผิดปกติในการแข็งตัวของเลือด ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่เกี่ยวข้องกับการเกิดภาวะลิ่มเลือดอุดตันในหลอดเลือดสมอง หัวใจ หรืออวัยวะสำคัญอื่นๆ อันอาจนำไปสู่ภาวะเจ็บป่วยรุนแรงหรือการเสียชีวิต แม้ว่ายาต้านการแข็งตัวของเลือดในทางคลินิกจะได้รับการพัฒนาอย่างต่อเนื่องมาหลายศตวรรษ แต่ยังคงพบข้อจำกัดด้านประสิทธิภาพและผลข้างเคียงในผู้ป่วย คณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากรำข้าวเหนียวแดงในการต้านการเกิดลิ่มเลือด เนื่องจากรำข้าวเหนียวแดงเป็นแหล่งของสารออกฤทธิ์ชีวภาพที่มีแนวโน้มในการส่งผลกระทบต่อระบบการแข็งตัวของเลือด โดยการศึกษานี้จะทำการทดสอบในหลอดทดลองโดยใช้เลือดจากอาสาสมัครที่มีสุขภาพดีมาทดสอบร่วมกับสารสกัดจากรำข้าวเหนียวแดงในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ และประเมินผลโดยการวัดค่า Prothrombin time (PT) และ Activated partial thromboplastin time (aPTT) ซึ่งคาดว่าสารสกัดดังกล่าวจะมีผลต่อกระบวนการแข็งตัวของเลือด และอาจนำไปสู่การพัฒนาทางเลือกใหม่ในการควบคุมภาวะลิ่มเลือดในอนาคต

## วัสดุและวิธีการ

### การสกัดจากรำข้าวเหนียวแดง

นำรำข้าวไปอบแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบอินฟราเรดเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำมาหมักใน 95% ethanol โดยใช้อัตราส่วนรำข้าวบดต่อ ethanol เท่ากับ 1:10 (น้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง โดยมีการเขย่าสลับกับการพัก จากนั้นทำการกรองแยกกากที่ได้ไปหมักซ้ำตามขั้นตอนเดิมอีก 3 ครั้ง นำสารสกัดที่ได้จากแต่ละรอบมารวมกัน และระเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยแบบหมุน (rotary evaporator) นำสารสกัดที่ได้มาเจือจางด้วย DMSO ให้ได้ความเข้มข้น 5, 10 และ 20 mg/mL การเลือกใช้ความเข้มข้นของสารสกัดจากรำข้าวเหนียวแดงที่ระดับ 5, 10 และ 20 mg/mL (ให้ความเข้มข้นสุดท้ายในหลอดทดลองคือ 1, 2 และ 4 mg/mL ตามลำดับ) มีที่มาจากการศึกษาเพื่อศึกษาปฏิกิริยาแบบ dose-dependent และยังสอดคล้องกับแนวทางการประเมินฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้นของสารสกัดหายา โดยการเริ่มต้นจากช่วงความเข้มข้นต่ำไปจนถึงสูง เพื่อสังเกตแนวโน้มของการตอบสนอง เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 0–4 °C โดยป้องกันไม่ให้สัมผัสกับแสง

### การเก็บตัวอย่างเลือด และการเตรียมพลาสมา

การเก็บตัวอย่างเลือดจากอาสาสมัครผู้ใหญ่สุขภาพดีทั้งเพศชายและหญิง อายุระหว่าง 18–35 ปี จำนวน 30 คน โดยไม่มีประวัติการใช้ยาอย่างน้อย 1 สัปดาห์ก่อนการเก็บตัวอย่างเลือด ทั้งนี้ผู้เข้าร่วมได้รับข้อมูลเกี่ยวกับการวิจัยอย่างเหมาะสม และให้ความยินยอมโดยสมัครใจและลงนามในเอกสารแสดงความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษร การศึกษานี้ได้รับการรับรองจากคณะกรรมการการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา เลขที่ COE No. BSRU-REC 6412001

ทำการเจาะเลือดจากหลอดเลือดดำบริเวณข้อพับแขนปริมาตร 3 mL แล้วใส่เลือดลงในหลอดทดลองที่มีสารละลาย Trisodium citrate เข้มข้น 3.2% โดยใช้อัตราส่วน Trisodium citrate ต่อเลือดเท่ากับ 1:9 จากนั้นปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 2,500 g เป็นเวลา 10 นาที [14] เพื่อแยกพลาสมาชนิดที่ไม่มีเกล็ดเลือด (pure platelet plasma: PPP) แล้วนำพลาสมาที่ได้แยกเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 2–4 °C

ในการศึกษานี้ใช้สารละลาย Phosphate buffered saline (PBS) เป็นสารควบคุมชนิด negative control เนื่องจาก PBS เป็นสารละลายที่มีค่า pH และความเข้มข้น

(osmolarity) ใกล้เคียงกับของเหลวในร่างกาย แต่ไม่มีส่วนประกอบที่เกี่ยวข้องกับการแข็งตัวของเลือด ได้แก่ fibrinogen, prothrombin หรือปัจจัยการแข็งตัวอื่น ๆ จึงไม่สามารถกระตุ้นการเกิดลิ่มเลือดหรือระบบการแข็งตัวของเลือดได้ เหมาะที่จะใช้เป็นตัวแทนเปรียบเทียบกับกลุ่มทดลองที่อาจมีการตอบสนองต่อสารกระตุ้นการแข็งตัวของเลือด

สำหรับสารควบคุมชนิด positive control ใช้สาร Anticoagulant citrate dextrose (ACD) ความเข้มข้น 3.2 % ซึ่งมีฤทธิ์ต้านการแข็งตัวของเลือดอย่างชัดเจน โดย ACD ความเข้มข้น 3.2 % มี citrate เป็นองค์ประกอบหลักที่สามารถจับกับแคลเซียมไอออน ( $\text{Ca}^{2+}$ ) ในพลาสมาได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งแคลเซียมเป็นองค์ประกอบสำคัญในกระบวนการแข็งตัวของเลือด ทั้งใน extrinsic pathway ที่ประเมนด้วย PT และ intrinsic pathway ที่ประเมนด้วย aPTT การจับแคลเซียมของ citrate ทำให้กระบวนการแข็งตัวของเลือดไม่สามารถดำเนินต่อไปได้ ส่งผลให้ไม่เกิดลิ่มเลือด ดังนั้นในการทดสอบ PT และ aPTT ทั้งนี้ตัวอย่างที่เติม ACD ความเข้มข้น 3.2 % ควรแสดงผลว่าไม่มีการแข็งตัว หรือมีระยะเวลาในการแข็งตัวที่ยาวนานกว่าปกติ ซึ่งแสดงถึงการยับยั้งของระบบการแข็งตัวของเลือดได้อย่างชัดเจน

### การวัดเวลาการแข็งตัวของเลือด

1. การวัดค่า Prothrombin time (PT) ใช้สำหรับประเมินระยะเวลาในการแข็งตัวของเลือดผ่านระบบปัจจัยการแข็งตัวภายนอก (extrinsic pathway) ด้วยชุดน้ำยา Diagen calcium thromboplastin เมื่อละลาย Calcium thromboplastin ด้วยน้ำกลั่นตามสัดส่วนแล้วนำสารละลายที่ได้ไปอุ่นในอ่างน้ำ (water bath) ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลาประมาณ 10 นาที เริ่มการทดสอบดังนี้

หลอดที่ 1 ดูดพลาสมาปริมาตร 0.1 mL ใส่ลงในหลอดทดลอง แล้วนำหลอดไปอุ่นใน water bath ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 2–3 นาที จากนั้นเติม PBS ปริมาตร 0.1 mL และเติม plasma (PA) PA = plasma ทำไปเพื่อให้แน่ใจว่า สัญญาณทั้งหมดเป็นของสิ่งที่ต้องการวิเคราะห์ไม่ใช่จาก reagent ที่ใช้ในการวิเคราะห์หรือการปนเปื้อนจากเครื่องแก้ว และสารเคมี ปริมาตร 0.1 mL เมื่อเตรียมส่วนผสมเรียบร้อยแล้ว ให้เริ่มจับเวลาในขณะที่เติม Calcium thromboplastin ปริมาณ 0.2 mL ลงในหลอด พร้อมกับค่อย ๆ เขี่ยหลอดที่มุมประมาณ 45 องศาอย่างช้า ๆ เป็นช่วง ๆ เพื่อสังเกตการเกิดก้อนไฟบริน (fibrin clot) เมื่อเกิดก้อนไฟบริน (fibrin clot) ให้หยุดจับเวลาและบันทึกเวลาที่ใช้ในการแข็งตัวของเลือด

หลอดที่ 2 ดูดพลาสมาปริมาตร 0.1 mL ใส่ลงในหลอดทดลอง แล้วนำหลอดไปอุ่นใน water bath ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 2–3 นาที จากนั้นเติม PBS ปริมาตร 0.2 mL เมื่อเตรียมส่วนผสมเรียบร้อยแล้ว ให้เริ่มจับเวลาในขณะที่เติม Calcium thromboplastin ปริมาณ 0.2 mL ลงในหลอด พร้อมกับค่อย ๆ เอียงหลอดที่มุมประมาณ 45 องศาอย่างช้า ๆ เป็นช่วง ๆ เพื่อสังเกตการเกิดก้อนไฟบริน (fibrin clot) เมื่อเกิดก้อนไฟบริน (fibrin clot) ให้หยุดจับเวลาและบันทึกเวลาที่ใช้ในการแข็งตัวของเลือด

หลอดที่ 3 ดูดพลาสมาปริมาตร 0.1 mL ใส่ลงในหลอดทดลอง แล้วนำหลอดไปอุ่นใน water bath ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 2–3 นาที จากนั้นเติม PBS ปริมาตร 0.1 mL และ acid citrate dextrose (ACD) ความเข้มข้น 3.2 % ปริมาตร 0.1 mL เมื่อเตรียมส่วนผสมเรียบร้อยแล้ว ให้เริ่มจับเวลาในขณะที่เติม Calcium thromboplastin ปริมาณ 0.2 mL ลงในหลอด พร้อมกับค่อย ๆ เอียงหลอดที่มุมประมาณ 45 องศาอย่างช้า ๆ เป็นช่วง ๆ เพื่อสังเกตการเกิดก้อนไฟบริน (fibrin clot) เมื่อเกิดก้อนไฟบริน (fibrin clot) ให้หยุดจับเวลาและบันทึกเวลาที่ใช้ในการแข็งตัวของเลือด

หลอดที่ 4, 5 และ 6 ดูดพลาสมาปริมาตร 0.1 mL ใส่ลงในหลอดทดลอง แล้วนำหลอดไปอุ่นใน water bath ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 2–3 นาที จากนั้นเติม PBS ปริมาตร 0.1 mL และสารสกัดจากรำข้าวเหนียวแดงที่ความเข้มข้น 5, 10 และ 20 mg/mL ปริมาตร 0.1 mL (ซึ่งให้ความเข้มข้นสุดท้ายในหลอดทดลองเท่ากับ 1, 2 และ 4 mg/mL ตามลำดับ) เมื่อเตรียมส่วนผสมเรียบร้อยแล้ว ให้เริ่มจับเวลาในขณะที่เติม Calcium thromboplastin ปริมาณ 0.2 mL ลงในหลอด พร้อมกับค่อย ๆ เอียงหลอดที่มุมประมาณ 45 องศาอย่างช้า ๆ เป็นช่วง ๆ เพื่อสังเกตการเกิดก้อนไฟบริน (fibrin clot) เมื่อเกิดก้อนไฟบริน (fibrin clot) ให้หยุดจับเวลาและบันทึกเวลาที่ใช้ในการแข็งตัวของเลือด

วิธีควบคุมความแม่นยำในการสังเกตก้อนไฟบรินมีดังนี้ 1. ใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกอบรม (trained personnel) ผู้วิจัยต้องมีการฝึกฝนและได้รับการฝึกอย่างเป็นระบบในการแยกแยะ “จุดเริ่มต้นของการเกิดก้อนไฟบริน” เพื่อให้ทุกการทดสอบมีมาตรฐานเดียวกัน 2. ใช้เกณฑ์ตายตัว (standardized visual endpoint) โดยงานวิจัยนี้กำหนดชัดเจนว่า “ก้อนไฟบริน” หมายถึงการเห็นลิ่มขาวขุ่นลอยตัว 3. ใช้มุมเอียงหลอดและความเร็วการหมุนที่สม่ำเสมอ เอียงหลอดที่มุม 45 องศา และหมุนหลอดเบา ๆ ทุกๆ 2–3 วินาที เพื่อให้สามารถเปรียบเทียบได้ระหว่างตัวอย่าง และหลีกเลี่ยงการเกิดลิ่มจากแรง

กระตุ้นเกินไป 4. ทำในอุณหภูมิที่ควบคุมไว้ (37°C) เพื่อควบคุมอัตราการเกิด clot ที่อาจเปลี่ยนแปลงได้จากอุณหภูมิ 5. ใช้ผู้ทดสอบคนเดิมในชุดตัวอย่างเดียวกัน เพื่อลดความแปรปรวน (inter-operator variation)

**2. การวัดค่า Activated partial thromboplastin time (aPTT) ใช้สำหรับ** ประเมินระยะเวลาในการแข็งตัวของเลือดผ่านระบบปัจจัยการแข็งตัวภายใน (intrinsic pathway) โดยใช้ชุดน้ำยา Partial Thromboplastin ทำการเจือจางน้ำยาตามอัตราส่วนที่ระบุ จากนั้นเตรียมสารละลาย Calcium chloride ความเข้มข้น 0.02 molar และนำไปอุ่นใน water bath ที่อุณหภูมิ 37 °C ล่วงหน้า เริ่มการทดสอบดังนี้

หลอดที่ 1 ดูดพลาสมาปริมาณ 0.1 mL ใส่ลงในหลอดทดลอง นำไปอุ่นใน water bath ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 2–3 นาที จากนั้นเติมสาร Partial thromboplastin ปริมาตร 0.1 mL ลงในหลอดและผสมให้เข้ากันอย่างรวดเร็ว แล้วนำไปอุ่นต่อใน water bath ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 3 นาที เมื่อครบเวลาเติม PBS ปริมาตร 0.1 mL และเติม plasma (PA) ทำไปเพื่อให้แน่ใจว่า สัญญาณทั้งหมดเป็นของสิ่งที่ต้องการวิเคราะห์ที่ไม่ใช่จาก reagent ที่ใช้ในการวิเคราะห์หรือการปนเปื้อนจากเครื่องแก้วและสารเคมี ปริมาตร 0.1 mL จากนั้นเติม Calcium chloride ปริมาตร 0.1 mL ที่เตรียมไว้ล่วงหน้า เมื่อเติมส่วนผสมทั้งหมดเรียบร้อยแล้ว ให้เริ่มจับเวลาในทันที และเฝ้าสังเกตทดสอบเบา ๆ เป็นช่วง ๆ เพื่อสังเกตการเกิดการเกิดก้อนไฟบริน (fibrin clot) เมื่อปรากฏก้อนไฟบริน (fibrin clot) ให้หยุดจับเวลาและบันทึกระยะเวลาที่ใช้ในการแข็งตัวของเลือด

หลอดที่ 2 ดูดพลาสมาปริมาณ 0.1 mL ใส่ลงในหลอดทดลอง นำไปอุ่นใน water bath ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 2–3 นาที จากนั้นเติมสาร Partial thromboplastin ปริมาตร 0.1 mL ลงในหลอดและผสมให้เข้ากันอย่างรวดเร็ว แล้วนำไปอุ่นต่อใน water bath ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 3 นาที เมื่อครบเวลาเติม PBS ปริมาตร 0.2 mL จากนั้นเติม Calcium chloride ปริมาตร 0.1 mL ที่เตรียมไว้ล่วงหน้า เมื่อเติมส่วนผสมทั้งหมดเรียบร้อยแล้ว ให้เริ่มจับเวลาในทันที และเฝ้าสังเกตทดสอบเบา ๆ เป็นช่วง ๆ เพื่อสังเกตการเกิดการเกิดก้อนไฟบริน (fibrin clot) เมื่อปรากฏก้อนไฟบริน (fibrin clot) ให้หยุดจับเวลาและบันทึกระยะเวลาที่ใช้ในการแข็งตัวของเลือด

หลอดที่ 3 ดูดพลาสมาปริมาณ 0.1 mL ใส่ลงในหลอดทดลอง นำไปอุ่นใน water bath ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 2–3 นาที จากนั้นเติมสาร Partial thromboplastin

ปริมาตร 0.1 mL ลงในหลอดและผสมให้เข้ากันอย่างรวดเร็ว แล้วนำไปอุ่นต่อใน water bath ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 3 นาที เมื่อครบเวลาเติม PBS ปริมาตร 0.1 mL และ acid citrate dextrose (ACD) ความเข้มข้น 3.2 % ปริมาตร 0.1 mL จากนั้นเติม Calcium chloride ปริมาตร 0.1 mL ที่เตรียมไว้ล่วงหน้า เมื่อเติมส่วนผสมทั้งหมดเรียบร้อยแล้ว ให้เริ่มจับเวลาในทันที และเอียงหลอดทดสอบเบา ๆ เป็นช่วง ๆ เพื่อสังเกตการเกิดการเกิดก้อนไฟบริน (fibrin clot) เมื่อปรากฏก้อนไฟบริน (fibrin clot) ให้หยุดจับเวลาและบันทึกระยะเวลาที่ใช้ในการแข็งตัวของเลือด

หลอดที่ 4, 5 และ 6 ดูดพลาสมาปริมาตร 0.1 mL ใส่ลงในหลอดทดลอง นำไปอุ่นใน water bath ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 2-3 นาที จากนั้นเติมสาร Partial thromboplastin ปริมาตร 0.1 mL ลงในหลอดและผสมให้เข้ากันอย่างรวดเร็ว แล้วนำไปอุ่นต่อใน water bath ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 3 นาที เมื่อครบเวลาเติม PBS ปริมาตร 0.1 mL และสารสกัดจากรำข้าวเหนียวแดงในระดับความเข้มข้น 5, 10 และ 20 mg/mL ปริมาตร 0.1 mL (ซึ่งให้ความเข้มข้นสุดท้ายในหลอดทดลองเท่ากับ 1, 2 และ 4 mg/mL ตามลำดับ) จากนั้นเติม Calcium chloride ปริมาตร 0.1 mL ที่เตรียมไว้ล่วงหน้า เมื่อเติมส่วนผสมทั้งหมดเรียบร้อยแล้ว ให้เริ่มจับเวลาในทันที และเอียงหลอดทดสอบเบา ๆ เป็นช่วง ๆ เพื่อสังเกตการเกิดการเกิดก้อนไฟบริน (fibrin clot) เมื่อปรากฏก้อนไฟบริน (fibrin clot) ให้หยุดจับเวลาและบันทึกระยะเวลาที่ใช้ในการแข็งตัวของเลือด

### การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ผลลัพธ์แสดงเป็นค่าเฉลี่ยเลขคณิต  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (Standard Error of the Mean: SEM) ข้อมูลทั้งหมดได้รับการวิเคราะห์ทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 23 โดยกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ค่า  $P < 0.05$

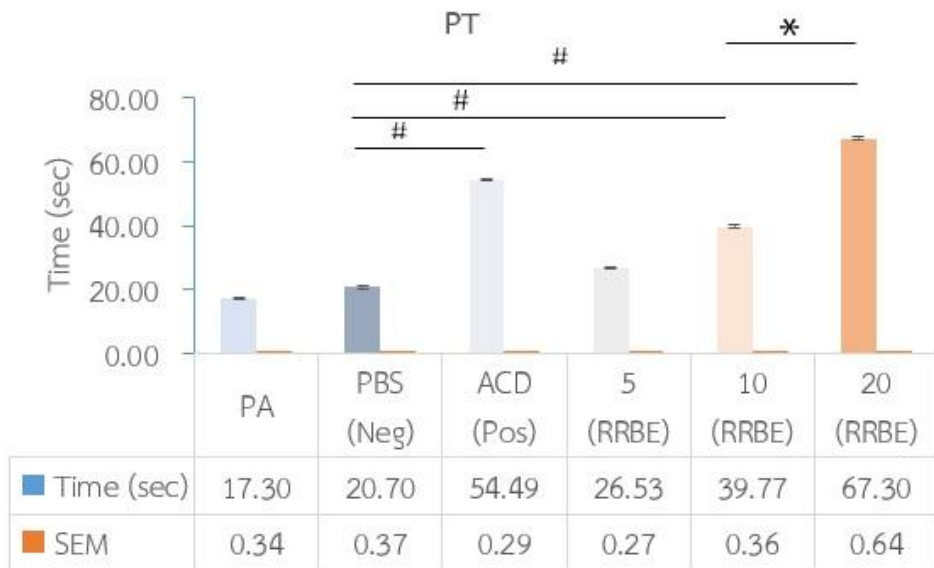
ก่อนดำเนินการวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าทางสถิติระหว่างกลุ่มทดลอง การแจกแจงของข้อมูลในแต่ละกลุ่มได้รับการตรวจสอบด้วยการทดสอบ Kolmogorov–Smirnov test เพื่อพิจารณาว่าข้อมูลมีการแจกแจงแบบปกติหรือไม่ โดยหากค่าความน่าจะเป็น (p-value) ที่ได้จาก Kolmogorov–Smirnov test มีค่าน้อยกว่า 0.05 ( $p < 0.05$ ) แสดงว่าข้อมูล ไม่มีการแจกแจงแบบปกติ (non-normal distribution) การวิเคราะห์จึงไม่สามารถใช้สถิติแบบพารามेटริก เช่น One-Way ANOVA ได้ ดังนั้น ในกรณีที่ข้อมูลไม่มีการแจกแจงแบบปกติ จึงเลือกใช้การทดสอบทางสถิติแบบไม่อิงพารามेटริก (non-parametric test) คือ

Kruskal–Wallis H test เพื่อเปรียบเทียบค่ากลางระหว่างกลุ่มตัวอย่างมากกว่า 2 กลุ่ม ซึ่งเป็นการวิเคราะห์ค่ามัธยฐาน (median) โดยไม่ขึ้นอยู่กับสมมติฐานของการแจกแจงแบบปกติ การทดสอบนี้จะประเมินว่าอย่างน้อยหนึ่งกลุ่มมีค่ากลางแตกต่างจากกลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ หากผลการทดสอบ Kruskal–Wallis พบว่า  $p\text{-value} < 0.05$  จะสรุปได้ว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่ม และสามารถดำเนินการทดสอบแบบคู่ (post hoc test) ต่อไป เช่น Dunn’s test หรือ Bonferroni correction เพื่อระบุว่าคู่กลุ่มใดแตกต่างกัน

## ผลการศึกษา

### 1. Prothrombin time (PT)

การศึกษากฤทธิ์ของสารสกัดจากรำข้าวเหนียวแดงต่อการแข็งตัวของเลือดด้วยวิธีการวัดค่า Prothrombin time (PT) โดยทดสอบสารสกัดในระดับความเข้มข้น 5, 10 และ 20 mg/mL ซึ่งให้ความเข้มข้นสุดท้ายในหลอดทดลองเท่ากับ 1, 2 และ 4 mg/mL ตามลำดับ ผลการทดลองพบว่าสารสกัดจากรำข้าวเหนียวแดงที่ความเข้มข้น 10 และ 20 mg/mL (ความเข้มข้นสุดท้าย 2 และ 4 mg/mL ในหลอดทดลอง) สามารถเพิ่มระยะเวลา PT ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม PBS (negative control) โดยมีค่า  $P < 0.05$  นอกจากนี้ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารสกัดในความเข้มข้น 10 mg/mL กับกลุ่มที่ได้รับ 20 mg/mL (ความเข้มข้นสุดท้าย 2 และ 4 mg/mL ในหลอดทดลอง) พบว่ากลุ่มที่ได้รับความเข้มข้นสูงกว่ามีระยะเวลา PT เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ดังแสดงในภาพที่ 1



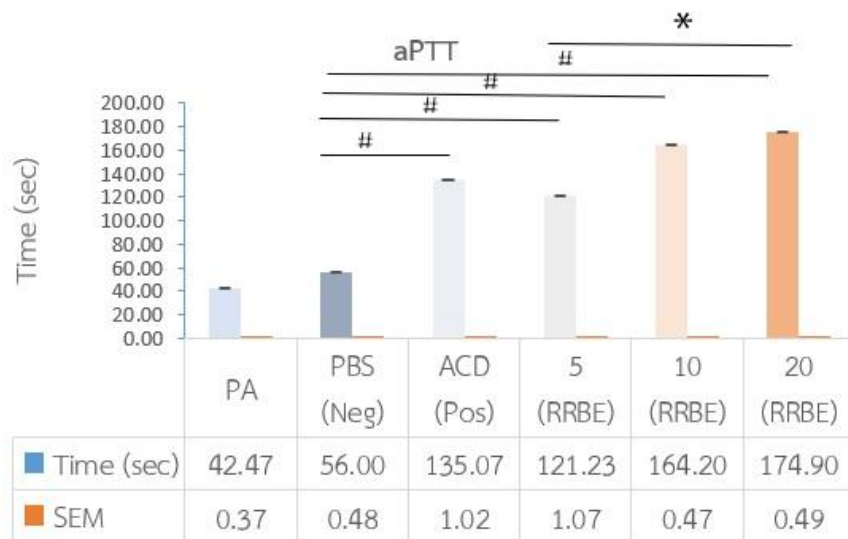
**ภาพที่ 1** ระยะเวลาในการแข็งตัวของเลือดที่วัดจากค่า Prothrombin time (PT) ในพลาสมาจากอาสาสมัครสุขภาพดีจำนวน 30 ราย ( $n = 30$ ) ภายหลังการเติมสารสกัดจากรำข้าวเหนียวแดงที่ความเข้มข้น 5, 10 และ 20 mg/mL (ความเข้มข้นสุดท้ายในหลอดทดลองเท่ากับ 1, 2 และ 4 mg/mL ตามลำดับ) โดยสารสกัดทั้งหมดแขวนลอยในสารละลาย PBS ผลการทดลองแสดงเป็นค่าเฉลี่ย  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (Mean  $\pm$  SEM) การเปรียบเทียบกลุ่มใช้ PBS เป็น negative control และ ACD ความเข้มข้น 3.2 % เป็น positive control

อักษรย่อ: PA = plasma ทำไปเพื่อให้แน่ใจว่า สัญญาณทั้งหมดเป็นของสิ่งที่ต้องการวิเคราะห์ไม่ใช่จาก reagent ที่ใช้ในการวิเคราะห์หรือการปนเปื้อนจากเครื่องแก้วและสารเคมี, PBS = phosphate buffered saline, ACD = acid citrate dextrose, RRBE = red rice bran extract; # = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม negative control, \* = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับสารสกัด

## 2. Activated partial thromboplastin time (aPTT)

การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากรำข้าวเหนียวแดงต่อการแข็งตัวของเลือดด้วยวิธี Activated partial thromboplastin time (aPTT) โดยใช้สารสกัดในระดับความเข้มข้น 5, 10 และ 20 mg/mL (ความเข้มข้นสุดท้ายในหลอดทดลองเท่ากับ 1, 2 และ 4 mg/mL ตามลำดับ) พบว่าสารสกัดจากรำข้าวเหนียวแดงในทุกความเข้มข้นสามารถยืดระยะเวลา aPTT ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ( $P < 0.05$ )

อย่างไรก็ตาม เมื่อนำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบระหว่างแต่ละกลุ่ม พบว่า ระหว่างความเข้มข้น 5 และ 10 mg/mL (ความเข้มข้นสุดท้าย 1 และ 2 mg/mL ในหลอดทดลอง) และระหว่าง 10 และ 20 mg/mL (ความเข้มข้นสุดท้าย 2 และ 4 mg/mL ในหลอดทดลอง) ผลทดสอบระยะเวลา aPTT ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่การเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารสกัดความเข้มข้น 5 mg/mL กับกลุ่มที่ได้รับ 20 mg/mL (ความเข้มข้นสุดท้าย 1 และ 4 mg/mL ในหลอดทดลอง) พบว่าผลทดสอบระยะเวลา aPTT มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ดังแสดงในภาพที่ 2



ภาพที่ 2 ระยะเวลาในการแข็งตัวของเลือดที่วัดจากค่า Activated partial thromboplastin time (aPTT) ในพลาสมาของอาสาสมัครสุขภาพดีจำนวน 30 ราย (n = 30) หลังจากเติมสารสกัดจากรำข้าวเหนียวแดงที่มีความเข้มข้น 5, 10 และ 20 mg/mL (ความเข้มข้นสุดท้ายในหลอดทดลองเท่ากับ 1, 2 และ 4 mg/mL ตามลำดับ) โดยสารสกัดทั้งหมดแขวนลอยอยู่ในสารละลาย PBS ใช้ PBS เป็น negative control และ ACD ความเข้มข้น 3.2 % เป็น positive control

อักษรย่อ: PA = plasma PA = plasma ทำไปเพื่อให้แน่ใจว่า สัญญาณทั้งหมดเป็นของสิ่งที่ต้องการวิเคราะห์ไม่ใช่จาก reagent ที่ใช้ในการวิเคราะห์หรือการปนเปื้อนจากเครื่องแก้ว และสารเคมี, PBS = phosphate buffered saline, ACD = acid citrate dextrose, RRBE = red rice bran extract; # = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม negative control, \* = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับสารสกัด

## วิจารณ์

ในทางคลินิก ยาต้านการแข็งตัวของเลือดและยาที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการแข็งตัวของเลือดถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายทั้งในผู้ป่วยและบุคคลทั่วไปที่มีความเสี่ยงต่อโรคหัวใจและหลอดเลือด เบาหวาน รวมถึงภาวะเลือดออกผิดปกติ แม้ว่ายาในกลุ่มนี้จะได้รับการพัฒนาอย่างต่อเนื่อง แต่ยังคงพบปัญหาผลข้างเคียงที่ไม่พึงประสงค์ในผู้ใช้หลายราย ทำให้เกิดความจำเป็นในการวิจัยเพื่อค้นหาสารออกฤทธิ์ใหม่ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมระบบการแข็งตัวของเลือดและมีความปลอดภัยสูงกว่า [15-19]

การศึกษานี้ได้ประเมินผลของสารสกัดหยาบจากรำข้าวเหนียวแดง (*Oryza sativa* L.) ที่เตรียมด้วยเอทานอลต่อระบบการแข็งตัวของเลือดในพลาสมาของอาสาสมัครสุขภาพดี โดยประเมินผ่านการวัดค่า Prothrombin time (PT) และ Activated partial thromboplastin time (aPTT) ซึ่งสะท้อนกระบวนการแข็งตัวของเลือดในเส้นทาง extrinsic, intrinsic และ common pathway ตามลำดับ ผลการทดลองพบว่าสารสกัดจากรำข้าวเหนียวแดงสามารถยืดระยะเวลาการเกิด fibrin clot ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในลักษณะที่ขึ้นกับความเข้มข้น โดยเฉพาะที่ความเข้มข้น 20 mg/mL (ความเข้มข้นสุดท้ายในหลอดทดลอง 4 mg/mL) ซึ่งให้ผลยับยั้งการแข็งตัวของเลือดได้มากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ใช้ PBS และ ACD ความเข้มข้น 3.2 %

การเพิ่มขึ้นของระยะเวลา PT และ aPTT อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สะท้อนว่าสารสกัดจากรำข้าวเหนียวแดงอาจมีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของปัจจัยการแข็งตัวในทั้ง intrinsic และ common pathway โดยเฉพาะเมื่อพิจารณาร่วมกับกลไกของ PT และ aPTT ซึ่งเป็นการทดสอบมาตรฐานในการประเมินการทำงานของปัจจัยการแข็งตัว เช่น PT ใช้ประเมินการทำงานของ factor VII และ common factors (V, X, II) ขณะที่ aPTT ประเมิน factor VIII, IX, XI, XII รวมถึง factors ของ common pathway เช่นเดียวกัน [21] ผลที่ได้บ่งชี้ว่าสารสกัดดังกล่าวอาจออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของปัจจัยเหล่านี้ผ่านการรบกวนกระบวนการจับตัวของแคลเซียมไอออน ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญใน cascade การแข็งตัวของเลือด

ผลการวิจัยยังสนับสนุนสมมติฐานว่าสารออกฤทธิ์ที่มีฤทธิ์ต้านการแข็งตัวของเลือดในสารสกัดรำข้าวเหนียวแดงมีลักษณะเป็นสารมีขั้ว (polar compounds) ที่ละลายได้ในเอทานอล เช่น กลุ่มโพลีฟีนอล ฟลาโวนอยด์ และแกมมา-ออร์ซานอล [22, 24] ซึ่งเป็น

สารพฤษเคมีที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และอาจยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการแข็งตัวของเลือด นอกจากนี้ การยืดระยะเวลา PT และ aPTT ที่พบในกลุ่มทดลอง ยังสอดคล้องกับแนวคิดว่าการยับยั้ง factor V, VIII, IX, X, XI และ prothrombin (factor II) มีความเป็นไปได้สูง ซึ่งอาจเป็นผลจากการจับ (chelating) แคลเซียมไอออนโดยสารบางชนิดในสารสกัด [20]

จากการสืบค้นพบว่า ยังไม่มีรายงานที่ศึกษาโดยตรงถึงฤทธิ์ด้านการแข็งตัวของเลือดของ “สารสกัดจากรำข้าวเหนียวแดง” (Red glutinous rice bran) มาก่อนอย่างชัดเจน การศึกษานี้จึงนับเป็นหนึ่งในงานวิจัยแรก ๆ ที่เจาะจงในหัวข้อนี้และวัดผลด้วยค่า PT และ aPTT โดยตรงในระบบหลอดทดลอง งานวิจัยที่ใกล้เคียงที่ศึกษารำข้าวสายพันธุ์มีสี เช่น ข้าวแดง ข้าวดำ ตัวอย่างเช่นงานของ Hansakul (2015) [11] และ Laokuldilok et al. (2011) [18] ที่ศึกษาสารสกัดจากรำข้าวหลากหลายสีของไทย พบว่าสารสกัดจากรำข้าวดังกล่าวมีปริมาณ สารต้านอนุมูลอิสระสูง โดยเฉพาะกลุ่มโพลีฟีนอล ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการยับยั้งการจับกลุ่มของเกล็ดเลือดและการสร้างลิ่มเลือด งานเหล่านั้นใช้ ethanol 95% เช่นเดียวกับงานวิจัยนี้ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าวิธีการสกัดสอดคล้องกัน สารสำคัญที่งานวิจัยเหล่านั้นรายงานพบ phenolics, flavonoids,  $\gamma$ -oryzanol เหมือนกับที่กล่าวถึงในงานวิจัยนี้ มีการกล่าวถึงฤทธิ์ทางชีวภาพในด้านการจับกลุ่มของเกล็ดเลือด (platelet aggregation) และการสร้างลิ่มเลือด (clot formation) ซึ่งสอดคล้องกับการที่สารสกัดจากรำข้าวเหนียวแดงยืดค่า PT และ aPTT ได้ ข้อแตกต่างของงานวิจัยก่อนหน้านี้เน้นการต้านอนุมูลอิสระ ต้านเกล็ดเลือด เป็นหลัก ไม่ได้วัดผลโดยตรงกับค่า PT และ aPTT การศึกษาในครั้งนี้เป็นการวัดกระบวนการแข็งตัวของเลือดแบบ *in vitro* โดยใช้พลาสมาและวัดค่า PT และ aPTT ซึ่งเป็นการประเมินเชิงลึกระดับกระบวนการแข็งตัวของเลือดมากกว่างานก่อนหน้านี้

เมื่อเปรียบเทียบกับยาต้านการแข็งตัวของเลือดที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน เช่น warfarin ซึ่งมีข้อจำกัดด้าน narrow therapeutic window และความเสี่ยงในการมีเลือดออก สารสกัดจากรำข้าวเหนียวแดงอาจเป็นทางเลือกใหม่ที่ปลอดภัยกว่า โดยเฉพาะหากสามารถแยกสารออกฤทธิ์บริสุทธิ์ที่มีผลเฉพาะเจาะจงและประเมินความเป็นพิษได้ในลำดับต่อไป นอกจากนี้ สารสกัดจากรำข้าวยังมีองค์ประกอบของสารพฤษเคมีที่ส่งผลต่อสุขภาพโดยรวม เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบ ซึ่งอาจเสริมฤทธิ์กับการลดความ

เสี่ยงต่อโรคหลอดเลือดอุดตัน ศักยภาพของสารสกัดนี้จึงไม่เพียงจำกัดอยู่แค่ในรูปแบบยา แต่ยังอาจพัฒนาไปสู่ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร หรือ functional food โดยเฉพาะสำหรับผู้ที่ต้องการลดความเสี่ยงของโรคหัวใจและหลอดเลือดแต่ไม่สามารถใช้ยาต้านการแข็งตัวของเลือดแบบสังเคราะห์ได้ อย่างไรก็ตาม ยังมีข้อจำกัดที่ต้องพิจารณา เช่น การทำงานวิจัยนี้อยู่ในระดับหลอดทดลอง (*in vitro*) ซึ่งไม่สามารถสรุปผลถึงประสิทธิภาพในระบบชีวภาพจริงได้อย่างสมบูรณ์ และยังไม่มีข้อมูลเกี่ยวกับผลในสิ่งมีชีวิตจริง การดูดซึมของสารออกฤทธิ์เมื่อบริโภคทางปาก และปัจจัยภายนอกอื่น ๆ เช่น ค่า pH หรือ ionic strength ที่อาจมีผลต่อระบบการแข็งตัวของเลือดหรือพลาสมาโปรตีนที่อาจรบกวนผลการทดลอง ดังนั้นในอนาคตควรมีการศึกษาต่อยอดเพื่อแยกสารออกฤทธิ์หลักที่มีบทบาทต้านการแข็งตัวของเลือดอย่างชัดเจน โดยใช้เทคนิคการสกัดและวิเคราะห์ที่แม่นยำ เช่น LC-MS หรือ HPLC รวมถึงศึกษาผลในสัตว์ทดลองที่มีภาวะลิ่มเลือดอุดตัน และประเมินความปลอดภัยระยะยาว ร่วมกับการเปรียบเทียบกับยาต้านการแข็งตัวชนิดมาตรฐาน เพื่อสนับสนุนการนำไปใช้ประโยชน์ในทางคลินิกหรือเชิงพาณิชย์ต่อไป

## สรุป

การศึกษานี้ได้ทดลองใช้สารสกัดจากรำข้าวเหนียวแดง (*Oryza sativa* L.) ที่เตรียมด้วย 95% ethanol เพื่อตรวจสอบฤทธิ์ในการชะลอการแข็งตัวของเลือดในหลอดทดลอง โดยใช้เลือดจากอาสาสมัครที่มีสุขภาพดีมาทดสอบร่วมกับสารสกัดในระดับความเข้มข้น 5, 10 และ 20 mg/mL (ความเข้มข้นสุดท้ายในหลอดทดลองคือ 1, 2 และ 4 mg/mL ตามลำดับ) การวัดผลใช้วิธี Prothrombin time (PT) และ Activated partial thromboplastin time (aPTT) เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม PBS (negative control) และ ACD (positive control) ความเข้มข้น 3.2 % ผลที่ได้พบว่าสารสกัดจากรำข้าวเหนียวแดงสามารถช่วยยืดระยะเวลาในการเกิดลิ่มเลือดได้ โดยความเข้มข้นที่ 20 mg/mL ให้ผลดีที่สุด ส่วนความเข้มข้นที่น้อยกว่าก็ยังมีแนวโน้มช่วยชะลอการแข็งตัวเช่นกัน แต่ไม่เด่นชัดเท่าความเข้มข้นสูงสุด นอกจากนี้ยังพบว่าฤทธิ์ของสารสกัดมีแนวโน้มใกล้เคียงกับสารควบคุม ACD ความเข้มข้น 3.2 % แม้ว่าจะยังไม่เทียบเท่ากัน

สารสกัดจากรำข้าวเหนียวแดงน่าจะออกฤทธิ์ต้านการแข็งตัวของเลือดผ่านกลไก dual-action คือ: รบกวนการจับตัวของ  $\text{Ca}^{2+}$  ผ่านฤทธิ์การจับโลหะของโพลีฟีนอล ยับยั้ง

การทำงานของเอนไซม์ปัจจัยการแข็งตัว ได้แก่ factor II, V, VII, VIII, IX และ X การออกฤทธิ์นี้สอดคล้องกับผลการทดลองที่พบว่าระยะเวลา PT และ aPTT เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ โดยเฉพาะที่ความเข้มข้น 20 mg/mL

การศึกษาครั้งนี้จึงแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากรำข้าวเหนียวแดงมีโอกาสนำไปพัฒนาต่อยอดเพื่อใช้ในการควบคุมการแข็งตัวของเลือด แต่ยังคงควรมีการศึกษาลงลึกเพิ่มเติมเพื่อหาสารสำคัญที่ออกฤทธิ์จริง รวมถึงทำความเข้าใจกลไกการทำงานให้ชัดเจนมากขึ้น

### กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ภาควิชาสาขาวิชาเทคนิคการแพทย์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา ผู้ให้ทุนอุดหนุนการวิจัย เพื่อสนับสนุนงานวิจัยนี้ ขอขอบคุณนักศึกษาสาขาวิชาเทคนิคการแพทย์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา ได้แก่ นางสาวสุภารัตน์ ผันผอง นางสาวชลลดา เชื้อมีแรง และนางสาวกมลลักษณ์ คำวัง ที่ได้ร่วมปฏิบัติงานวิจัยจนสำเร็จ ลุล่วงไปด้วยดี

### เอกสารอ้างอิง

1. Hall JE, Guyton AC. Guyton and Hall textbook of medical physiology. 13th ed. Philadelphia: Elsevier; 2016.
2. Kumar V, Abbas AK, Aster JC. Robbins and cotran pathologic basis of disease. 10th ed. Philadelphia: Elsevier; 2020.
3. Hoffman R, Benz EJ, Silberstein LE, Heslop HE, Weitz JI, Anastasi J. Hematology: Basic principles and practice. 7th ed. Philadelphia: Elsevier; 2018.
4. Raskob GE, Angchaisuksiri P, Blanco AN, Buller H, Gallus A, Hunt BJ, et al. Thrombosis: a major contributor to global disease burden. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2014;34(11):2363–71.
5. Konstantinides SV, Meyer G, Becattini C, Bueno H, Geersing GJ, Harjola VP, et al. 2019 ESC guidelines for the diagnosis and management of acute pulmonary embolism developed in collaboration with the European

- Respiratory Society (ERS). Eur Heart J.2020;41(4):543–603. doi: 10.1093/eurheartj/ehz405
6. Weitz JI, Fredenburgh JC, Eikelboom JW. A test in context: anticoagulation. J Am Coll Cardiol. 2017;70(8):1012–26. Weitz JI, Fredenburgh JC, Eikelboom JW. A test in context: D-dimer. J Am Coll Cardiol. 2017; 70(19): 2411–2420.
  7. Katzung BG, Vanderah TW. Basic and clinical pharmacology. 15th ed. New York: McGraw-Hill Education; 2021.
  8. ศิริพร พรชัยศักดิ์เจริญ. ข้าวไทย: ความหลากหลายทางพันธุกรรมและคุณค่าทางโภชนาการ. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 2562;50(1):45–58.
  9. ไพฑูรย์ พงษ์ไพจิตร, กาญจนา บุญส่ง. สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในรำข้าวและการประยุกต์ใช้. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม. 2558;34(3):346–55.
  10. Iqbal S, Bhanger MI. Stabilization of sunflower oil by garlic extract during accelerated storage. Food Chem. 2007;100(1):246–54. doi: 10.1016/j.foodchem.2005.09.049
  11. Hansakul P, Punyamong P, Leardkamolkarn V. Antioxidant and antiplatelet aggregation activities of Thai rice bran extracts. J Med Assoc Thai. 2015;98(Suppl 4):S74–81.
  12. พรพรรณ นาคะประทีป, พิทยา ศรีวัฒน์. การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากรำข้าวแดง. วารสารเทคโนโลยีการเกษตร. 2561;14(2):23–31.
  13. Wong WT, et al. Modulation of platelet functions by crude rice (*Oryza sativa*) bran policosanol extract. BMC Complement Altern Med. 2016;16:252–62.
  14. Kitchen S, Adcock DM, Dauer R, Kristoffersen AH, Lippi G, Mackie I, et al. International Council for Standardization in Haematology (ICSH) recommendations for processing of blood samples for coagulation testing. Int J Lab Hematol. 2021;43(6):1272–83. doi: 10.1111/ijlh.13702

15. Angiolillo DJ, Goodman SG, Bhatt DL, Gibson CM, Mega JL, Bates ER, et al. Antithrombotic therapy in patients with atrial fibrillation and diabetes mellitus: A review of current evidence and future perspectives. *Thromb Haemost.* 2020;120(5):665–74.
16. Capodanno D, Patti G, Eikelboom JW, Morice M-C, Collet J-P, Angiolillo DJ. Oral anticoagulants in patients with diabetes mellitus and atrial fibrillation. *Nat Rev Cardiol.* 2021;18(2):103–16.
17. Kosiborod M, Cavender MA, Fu AZ, Wilding JP, Khunti K, Holl RW, et al. Anticoagulation in patients with type 2 diabetes mellitus and cardiovascular disease: balancing benefit and risk. *Am J Med.* 2021;134(2S):S36–44.
18. Laokuldilok T, Shoemaker CF, Jongkaewwattana S, Tulyathan V. Antioxidants and antioxidant activity of several pigmented rice brans. *J Agric Food Chem.* 2011;59(1):193–9.
19. Raccach D, Bret PM, Chibout S-D, Dentan C, Noble S. Use of direct oral anticoagulants in patients with type 2 diabetes mellitus and cardiovascular disease: An update. *Cardiovasc Diabetol.* 2020;19(1):1–11.
20. Singh S, Dodt J, Volkers P, Hethershaw E, Philippou H, Ivaskevicius V, et al. Structure functional insights into calcium binding during the activation of coagulation factor XIII A. *Sci Rep.* 2019;9(1):11324. doi: 10.1038/s41598-019-47815-z